

出國報告（出國類別：進修）

# 2022-2023 年美國加州大學戴維斯分校 醫學院生化分子醫學系進修報告

服務機關：高雄榮民總醫院內科部腎臟科

姓名職稱：黃建維

派赴國家：美國

出國期間：2022/08/01-2023/07/31

報告日期：2023/08/23

## 摘要

此次出國進修主要目的欲延續本身之研究能力，在現今精準醫學以及轉譯醫學興盛的時代，希望了解國外的研究動能方向，透過親自參與基礎實驗，精進研究能力。此次進修地點為美國加州大學戴維斯分校 Su Hao Lo 教授所帶領的基礎實驗室。加州大學戴維斯分校是美國公立大學排名前十名的名校，而 Lo 教授研究領域更是 tensins 的先驅，其小鼠動物疾病模式有顯著慢性腎臟病發生。在這一年進修中，除了深化基礎實驗的研究概念、精進基礎實驗的操作能力，在 Lo 教授的指導下完成 tensins in kidney function and diseases 的文獻回顧論文發表。進修過程中透過參與學校學術活動、與美國頂尖學者互動討論，對於研究理念、實務操作，都有莫大的收穫和成長。期許能將這些歷練實現在臨床服務、教學與研究上。

**關鍵字** 腎臟疾病，基礎研究，Tensins，慢性腎臟病，腎臟癌

# 目次

一、目的.....	4
二、過程.....	5
三、心得及建議.....	14
附錄.....	16

## 一、目的

慢性腎臟病影響全球人類健康甚鉅，每年慢性腎臟病病人進展到末期腎病變的發生率都在上升，其中臺灣因末期腎病變接受透析治療的病人盛行率更是一直位居世界之冠。此外因慢性腎臟病原因死亡的發生率亦逐年上升，根據世界衛生組織報導預計 2030 年慢性腎臟病將成為全球死亡原因的第八名，這些現象意味著持續研究慢性腎臟病，找出新的治療方式去改善人類健康是刻不容緩的議題。目前臨床慢性腎臟病的治療策略包括：治療慢性腎臟病的發生原因，穩定血壓範圍，低蛋白飲食，使用血管收縮轉換酶抑制劑或血管收縮素受體阻斷劑，或是鈉-葡萄糖協同轉運蛋白 2 抑制劑…等，然而實際阻止慢性腎衰竭進展的功效有限。值得注意的是雖然導致慢性腎臟病的病因很多，但無論是哪一種病因，進展到慢性腎臟病時，都會呈現一些共同的病理特徵，包括腎絲球硬化，腎小管旁微血管硬化稀疏，腎小管萎縮，腎間質發炎細胞浸潤，和腎間質纖維化，因此目前有研究著眼於此慢性腎臟病腎臟微環境的病生理機制，去試圖找出新的治療方式改善慢性腎臟病。

職於高雄榮民總醫院腎臟科擔任主治醫師，投入於臨床服務，教學，以及研究相關工作，有賴院方長官指導提拔，於 2021 起擔任陽明交通大學醫學院醫學系內科學科兼任助理教授，有感於現今研究多所強調精準醫學以及轉譯醫學，而職先前研究多以臨床病例資料為主，如何加強基礎研究能力包括研究主體發想，和基礎研究技巧培養，以期本身能進一步進行轉譯醫學和精準醫學相關研究，是職本次申請出國進修的目的。美國加州大學戴維斯分校是目前美國公立大學排名前十名的優秀學校，其生物和農業工程更是全美第一名，先前擔任國家衛生研究院院長的中研院龔行健院士，即為加州大學戴維斯分校生化與分子醫學系特聘教授暨癌症中心副主任兼基礎研究主任。基於該校擁有優秀的基礎研究能力，若能將這些基礎研究應用於臨床層面，將對精準醫學及轉譯醫學的進展有莫大助益。職有幸透過科內許智揚醫師介紹認識 Su Hao Lo 教授，Lo 教授目前為美國加州大學戴維斯分校醫學院生化分子醫學系教授，研究領域之一為黏着斑(focal adhesion)的一個相關蛋白，稱之為 tensins，於此領域教授發表許多傑出的研究論文，堪為該領域的先驅。當中一個特別的發現是 tensin-1 knockout mice 此動物疾病模式可發現老鼠產生囊性慢性腎臟疾病，並且因為腎衰竭死亡，由於 tensin 與 kidney diseases 在臨床的關聯性尚未有人深入著墨探討，符合職設想增進本身基礎研究能力的方向，同時又是本科慢性腎臟疾病領域，與 Lo 教授接觸面談後，Lo 教授願意

提攜職後輩，職亦獲得退輔會及高雄榮總長官對於職進行進修的支持，因此職遂於 2022 年 8 月到 2023 年 7 月前往美國加州大學戴維斯分校醫學院生化分子醫學系 Su Hao Lo 教授實驗室進行一年的國外進修。

## 二、過程

### 2022 年 8 月

美國加州大學戴維斯分校給予進修時間為 2022 年 8 月 1 日開始，然而第一次到美國進修的人員規定必須在 DS2019 簽訂時間前 30 天內進入美國國境，由於處於國外後疫情階段，申請美國簽證的人數眾多，所幸與對方溝通順利，將 DS2019 時間改到 8 月 20 日，簽證在 7 月中順利通過，在與科內長官和同事交班職本身院內進行的臨床工作和教學課程後，職於 8 月 10 日與家人一同飛往美國加州戴維斯，感謝方華章主任，李柏蒼主任，許智揚醫師，何宗佑醫師，以及科內其他同事幫忙。美國加州戴維斯本身是個大學城，城市擁有許多可租屋的房子，不過空房情況也就和學校寒暑假很有關聯，比較無法任意一個時間租用一年，我們租的房子必須在 8 月 19 才能入住，因此來到戴維斯後我們是先住在飯店一週，同時先辦理美國生活必需事項，包括開通手機號碼，前往銀行開戶，辦理租用水電，購買二手汽車，處理相關保險，採購家具及生活必需品。過程中深刻感受到英語溝通能力的重要，有時候面對面還可以比手畫腳幫忙理解，然而經歷 covid 疫情，許多業務改採電話服務，而且幾乎都是 AI 介面對話，職已然習慣在台灣辦理任何事務都相當順暢，在這裡有時候為了完成一個事情得耗一個小時的電話時間，因為輸入錯誤而重複打電話的次數也不在少數，所幸後來越來越熟悉這個模式，辦理事務的壓力也就逐漸減輕，不過仍然深深感覺台灣服務人員具備很強大的辦事能力。在初抵達戴維斯的那一週，職兩名幼子相繼發生類 Covid/類流感的情況，高燒不退，嘔吐厭食，無力倦怠，職本期待自己能趕緊將生活庶務完成，以便能盡快進行實驗進修，與此同時卻遭遇家人身體健康不適情況，壓力不可言喻，所幸有同在戴維斯進修的友人相互扶持，教授也撥空前來探視了解情況，並介紹我一間認識的醫療診所在有需要能提供協助，並告知我一切安置好後再前往實驗室即可。幸好之後小孩病況逐漸穩定改善，我們也順利入住接下來待一年的房子後，職便儘速前往學校辦理進修相關事宜。

## 2022年9月

美國加州大學戴維斯分校的醫學中心位於加州首府沙加緬度，教授的實驗室也位於醫學中心當中，學校有提供接駁戴維斯到沙加緬度的交通車，路程約 40 分鐘，職於平日多半利用免費的接駁車通勤，但基礎實驗的進行其實不分平假日，若遇到假日得前往實驗室則會自行開車前往。職於八月底先前往 Ticon III Building Human Resources 複合大樓領取職員卡以及登入需要進入的場域後（之後都使用此職員磁卡進出被允許的大樓，包括主要的實驗室 Oak Park Research Building，以及實驗動物餵養的 Researching Building I），便與教授約時間前往實驗室，教授先帶我參觀 Oak Park Research Building 環境並向我介紹行政人員，這棟建築二樓是主要是生化分子醫學系和骨科部門使用，一樓則有部分區域外包給廠商進行實驗，二樓有部分區域是生化分子醫學系和骨科部門共同使用，充分利用空間。這裡遇到的生化分子醫學系行政人員，包括一般事務人員 Jelessa 和 Chief Admin Officer Adriane Joo 和一個維護實驗室安全的保全人員 Kevin，事務人員常常 remote working 不見得會天天在，不過寄信互動倒是挺迅速地協助職進修相關事宜。保全人員 Kevin 倒是很仔細認真，不但要保護實驗室人員不被奇怪的人士騷擾，也會盯著我們是否有依據安全標準進行實驗包括穿著適當的實驗衣服，手套穿脫的時機（很像感控在看洗手 5S），來的這一年有遇過不明人士騷擾女性，還有無業遊民直接入侵地下室躲寒冬，都是勞煩他處理。在教授介紹了他的實驗區域，職便被引導到教授的辦公室與教授討論接下來一年的目標方向，職向教授提出想要親手參與基礎實驗的想法，接著與教授討論腎臟科基礎研究要如何發想後，教授建議職先著手進行一個 review article，一方面可以建立對基礎實驗的了解，另一方面更可通盤詳讀基礎研究在腎臟疾病的角色。此外，教授亦讓職參與先前教授帶領的 project 中的一些需要重新確認結果的實驗，藉由操作的過程讓職熟悉實驗室以及相關的操作。教授其一的重要研究領域為黏着斑(focal adhesion)的一個相關蛋白，稱之為 tensins，當年教授的研究團隊發現此蛋白並且將其基因成功定序發表。目前已知 tensins 共有四個蛋白質成員，稱之 tensin-1, tensin-2, tensin-3, 以及 c-terminal tensin-like (cten, 或稱為 tensin-4), tensins 負責細胞內形狀結構的維持和變化，以及細胞內外訊息的傳遞，因此參與了許多細胞功能，包括附著、移走、侵入、增生、以及機械感應，值得注意的是教授建立了 tensin-1 knockout mice 此動物疾病模式並且發現該老鼠會產生囊性慢性腎臟疾病，並且存活 16 個月後會因為腎

衰竭死亡，此外日本團隊也有發現 *tensin-2 deficient mice* 會產生流失大量尿蛋白之腎病症候群腎病變，但 *tensin-2* 相關的腎臟病變有鼠種上的差異，必須在 FVB strain 才有此病變，於 C57BL6 或 sv129 strain 則沒有此變化，*tensins* 與腎臟疾病的相連性以及牽涉的細胞訊號目前也都還在研究中，臨床上 *tensins* 與腎臟疾病尚未有顯著連結，因此職便著手整理先前發表過的文獻，以利接下來 review article 的寫作。除此之外，9 月底有收到來自 PGY 鄭醫師 E-mail 來信，職於出國前在教學門診跟鄭醫師討論門診個案，並鼓勵鄭醫師將之寫成個案報告，此時鄭醫師來信告知已完成初稿，職遂同時進行個案報告的稿件修正。

## 2022 年 10 月

職於撰寫 review article 的過程中有許多收穫，包括一來能藉由整理資料和撰寫快速獲得 *tensins* 相關的知識，另外一方面我也可以以腎臟科臨床醫師的角度來檢視目前 *tensins* 的基礎研究領域是否能與臨床腎臟疾病有關聯性，職於撰寫時同時學習基礎研究，此時基礎研究重點在於學習基本基礎實驗的知識和操作，主要是教授期許先專心處理好 review article，有 *tensins* 相關知識後再進行接下來的實驗。職仰賴先前科內老師以及所有指導過我的前輩們帶領職進行臨床研究時所獲得的經驗，在教授積極指導下，於十月時完成了稿件撰寫以及相關圖片收集，並且進行了第一次投稿，我們選擇了 *Genes and Diseases* 這本期刊進行投稿，雖然職先前也有寫過臨床疾病文獻回顧的文章 (*Comparative efficacy and acceptability of treatments for restless legs syndrome in end-stage renal disease: a systematic review and network meta-analysis*)，但是這次撰寫基礎研究的文獻回顧文章方面仍然是得到非常多的寶貴經驗，像是我們的文章圖一是 human *tensins* 的 domain 結構示意圖，職過往處理圖片會要求簡潔清楚，因此不需要特別強調的區域會使用同一顏色帶過，然而教授提醒不需要強調的區域其實每個 *tensin* 不盡相同，使用同一顏色會讓人誤會那些區域是相同的結構，過往看基礎文章常常看到示意圖五顏六色，現在知道箇中原因。另外還有基礎研究對於代表的是 gene 還是 protein，是人類的還是動物的，撰寫的格式也有所不同，我們撰寫的文章也有探討 *tensins* 表現與腎臟癌病人存活率的關聯性，先前學到的統計知識此時也派上用場，與教授順利判讀結果並撰寫出來。於此我學習到撰寫文獻回顧類型文章，整理文獻除了需要最新以及全面外，對於文獻的解讀必須正確客觀，不錯誤解

讀，不過度解釋，更重要的是寫者應該期許自己將這些知識統整後，以自身的經驗傳遞出新的，對後續研究有幫忙有影響的資訊，倘若撰寫文獻回顧只是一味地整理文章而沒有自身經驗加疊陳述，這樣寫出來的文章對未來研究的加分其實是很有限的。另外一方面，基礎實驗的進行在教授以及教授的研究助理 Tang Ying 帶領下也開始有了進度，這個月我學習了一些基礎實驗的原理和操作，包括如何解凍細胞，培養細胞，分盤，凍細胞，如何使用 Pipette，如何進行藥物治療，如何製作 western blot 的膠，配出實驗需要 medium，以及如何操作 western blot，雖然都是基礎實驗的基本功夫，對職都是全新知識的學習，每一步都是充滿興趣的操作。

## 2022 年 11 月

戴維斯和沙加緬度屬於地中海型氣候，八九月份氣候乾燥，下午常有高溫特報，溫度高達 40 度，走在路上感覺汗一出來就蒸發了，但仍必須穿著抗 UV 外套避免被曬傷，到了十一月份氣候開始明顯轉涼，十一月底感恩節週過後，樹上的葉子幾乎都落光了，地上滿滿的枯葉，清潔人員需要每天清理，否則隔一天地上就又是厚厚一層的樹葉，這時候也見識到了美國投注大量資源和人力在維護環境的霸氣，這些巨樹、綠蔭、繁花、整齊的市容，都不是憑空掉下來的。來了三個月，也逐漸適應這裡的環境和生活步調，終於有心思感受身邊的一草一木，第一次體驗這種四季分明的氣候，與炎熱的高雄截然不同，覺得是很特別的經驗。這個月份我遇到了台灣學者投稿時可能會遭遇到的政治議題，期刊編輯希望作者機構名稱不要提及台灣，職與教授討論並瞭解彼此可接受的底線後，教授亦教導如何與對方互動，同時與教授聊天時得知其實不少著名期刊後面都有中國贊助的影子，倘若每個期刊都這樣要求，台灣的學者只會越來越艱辛，甚至國外學者是否也會因為這個因素而減少台灣學者合作互動，都是值得注意的。教授也期許台灣能有團隊主動與國外期刊互動合作，同時也樹立起台灣自己好口碑的期刊，對於台灣研究學術都是迫不及待需要進行的事宜，這個月在實驗室有遇到和教授合作的 Ching-Hsien Chen 教授以及她的團隊前來本實驗室使用共軛焦顯微鏡，陳教授是在美國加州大學戴維斯分校內科部門的副教授，基礎研究的領域涉及肺部疾病和腎臟疾病，與戴維斯分校醫學中心的腎臟科醫師有合作研究急性腎損傷相關研究，是一位非常優秀且積極的年輕教授，職與其團隊成員相談，了解他們與腎臟科合作的研究，發現大多數還是以疾病動

物模式去進行探討，與醫師合作的部分主要是當研究議題有適合的臨床檢體可應用時，由合作臨床醫師負責提供。他們有提到在美國醫師如果對基礎研究很有熱忱跟興趣，是可以選擇將臨床工作降載到最低，比如百分之十的工作時間進行臨床工作，百分之九十的時間浸淫在實驗室，甚至就完全改作研究型醫師，在美國寫研究計畫是可以將計劃經費撥取部分作為計畫主持人的薪水，實際加起來也不會輸給全部都做臨床的醫師。實驗室的前輩對於職於台灣擔任臨床腎臟科醫師卻來進修基礎研究相當好奇，在告知本身希望顧及臨床工作之餘也想要精進研究的能力後，他們祝福我能多吸收基礎研究知識，回去若與基礎老師合作也比較能知道基礎研究在做什麼，與此感覺起來美國雖然是一個極為競爭的環境，但對工作的分配和該有的給付，似乎比台灣醫師幸福許多，陳教授也介紹了來自台灣的兩位博後，預計明年會台灣奉獻所學，也期許之後回台灣有合作的機會。

## 2022年12月

來到教授的基礎實驗室邁向第四個月，期間與教授報告了自己做的基礎實驗結果，我一開始參與的實驗是探討 cten 結合 actin 的能力是否會影響肺癌的形成，cten 是 tensins family 中分子量最小的成員，約 80 kDa 大小，cten 與 cancer cell 的行為有許多的研究發表，包括 lung cancer，於先前已知 lung cancer cell 缺乏 cten 會影響其 migration/invasion/metastasis 行為，更進一步發現是 cten phosphotyrosine binding 的能力影響了這個行為，而參與的這個實驗想做的事情是團隊發現 cten 有一段基因與其 actin 結合的能力有關，那是否這個 actin 結合的能力與 lung cancer 的行為有關聯，因此我研究使用的細胞包括了代表 lung cancer 的 cell line A549，A549 with cten knock out(KO)，A549 with cten KO + wild type cten，A549 with cten KO + cten of impaired phosphotyrosine binding ability，A549 with cten KO + cten of impaired phosphotyrosine binding ability and impaired actin binding ability，而 A549 with cten KO 被置入的各種 cten 必須使用 doxycycline 進行表達，我重複先前的實驗內容包括確認 doxycycline 誘發 cten 表達的時間，doxycycline 誘發 cten 表達需要的濃度，doxycycline 誘發 cten 表達後移除 doxycycline 則 cten 可持續表達的時間，各種細胞在有無 doxycycline 誘發表現出來的樣貌，包括 cell function including cell proliferation，migration and adhesion，protein

expression including cten and a-tubulin，操作這幾個實驗讓我有一些感想，比如說 doxycycline induce cten expression 的濃度該是多少比較適合，我們往往會參考先期刊發表或者是廠商給予的資料來決定，然而最標準的做法應該是自己先花基本功去訂出適合自己實驗 cell lines 的濃度，畢竟每個細胞的反應不同，同時 doxycycline 濃度太高也有造成細胞死亡的毒性，此外 doxycycline induce cten expression 需要多久時間以及移除後可以表現多久也都是基本功，然而這些實驗挺耗時的，自己得設計好時間間隔，另外在 cell proliferation 實驗，因為有五種細胞加上有無 doxycycline induction 共有九種 cell conditions，要進行在 96 孔版，然後要有 day 0，day 1，day 3，day 5 共四盤，如何設計有效使用時間，以及如何使用 multichannel pipette 讓精準度接近，都是很考驗技術跟耐力，這個實驗設計有 day 5，因此進行這個實驗的時候往往週六或週日得再前往實驗室進行實驗，有時候想起之前老師們說過基礎實驗很辛苦，週六週日還得自己前往實驗室進行實驗，現在自己體驗起來還真有一番味道；還有 cell migration 這個 scratching test 實驗也很考驗技術，包括如何使用 200 ul tip 去刮出大小接近的空間，如何設定時間間隔來決定什麼時候要照相，如何算出 migration rate，有時候晚上九點還在實驗室只是為了那個時間點需要來照相，讓我印象深刻。教授說現在其實有 real time machine 幫忙記錄 cell proliferation 和 migration rate，只要上班時候分析 machine 記錄下來的影像即可，不需要花這麼多時間，也比較準確，但要價不菲，在實際與教授討論實驗結果的過程，吸收到許多基礎老師在判讀學生給出的報告的時候會注意的事情和細節，老師必須確保學生呈現的產品其準確度和正確性，以免學生做出錯誤的實驗或著錯誤的判讀結果，影響後續實驗進行的方向，這個把關的動作實至為重要。在 2022 年年底，教授也邀請團隊跟我家人進行歲末聚餐，一起迎接 2023 年的到來。

## 2023 年 1 月

利用 A549 進行的實驗已完成一定的進度，教授在與我確定某些實驗結果後，職開始了另一個 protocol，是有關於腎臟疾病的基礎實驗。於職前往進修前不久，教授團隊剛發表一篇文章為 C-terminal tensin-like (CTEN) knockin alleviates cystic kidney defects in Tensin-1 knockout mice。Cten 於腎臟內細胞表現極少，過去研究僅在北方墨點有極低的表現，mRNA 則是沒有偵測到，教授團隊先前將 cten 轉植到 tensin-1 KO mice，竟然發現此老

鼠竟然因為 cten 轉植而改善本來的囊性慢性腎臟病，存活率也改善，是一個突破性的概念，因為過往會認為 cten 之於 tensin-1 應該屬於 dominant negative competitor，但這篇文章發現 cten 在腎臟表皮細胞上可能表現了類似 tensin-1 的作用。團隊其實在 tensin-2 KO mice 也有類似發現，但細胞端去進行相關實驗則有些許瓶頸需要重複實驗去證實，因此我便進行了這個 protocol 的 in vitro 實驗，一開始教授與我討論要使用何種細胞，教授說明最準確的做法應該是從 tensin-2 KO mice with cten translation 取出腎臟足細胞，目前比較公認的方法是使用磁珠的方式，另外一種方法則是使用 human podocyte cell line，這個 cell line 被發現在 33 度 C 可以 proliferation，但在 39 度 C 則會 differentiation 成具備 podocyte 特性的細胞，由於第一個方法需要 sacrifice mice 同時 bean 要新購入，考量到我的 learning curve 有可能進修結束前要完成不太容易，因此我們決定使用教授現有的 human podocyte cell line 進行此實驗。

## 2023 年 2 月

投稿於 Genes and Diseases 的 review article 有了回應，希望我們可以做 major revision。教授請我看了相關意見後與我討論，過往職面對著可以 major revision 都感到相當開心，總覺得把 reviewers 的意見好好處理就可以刊登上了，然而教授卻不以為然，認為該本雜誌並沒有用心看待我們投稿的文章，reviewers 給的意見非常表面，與教授談論後，我們決定投稿於另外一本期刊而不進行這本期刊的 major revision。職於此過程學習到很珍貴的知識，教授曾經勉勵職做研究最好是同一個有興趣的事情一直做，而不是東做一點西做一點，這樣子才會越來越精，越來越深入，這樣子端出來的產品會很有信心，畢竟你就是在這個領域深耕的人才，才會達到一定的高度。職過往都只想著端出來的資訊只要有期刊願意刊登就很高興了，沒想到教授的想法是好東西就要找願意好好看待他的期刊待著，不可以濫竽充數，因此後來我們往另外一本期刊修正內容方向，同時再次搜尋是否有新文章必須引用後，進行第二次的投稿。而這段時間的基礎實驗也是面臨了不小的問題，human podocyte cells 在 33 度 C 要長多少再轉往 39 度 C，轉到 39 度 C 後要在裡面幾天會認為 differentiation 完成可以進行下一個實驗，如何設計實驗將 cten 置入已分化的 podocyte 並且置入多久後進行實驗，要進行怎樣的 cell function 實驗比較符合 podocyte function，

western blot 要偵測哪些 protein，職後來回想一開始花了不少時間做了不需要進行的實驗，如果一開始就思考好設計好，進度一定會更好。

## 2023 年 3 月

歷經過寒冷的冬天，3 月份的加州開始綻放春天的花朵，從住家，公路旁，到公園，每種花都開的又大又美，空氣中會出現很明顯的花粉，無怪乎以前念教科書都會提花粉症是很常見的疾病。這個月除了繼續基礎研究的工作外，與 PGY 醫師合力撰寫的個案報告也開始進行投稿作業，另外職出國前參與的台灣原發性醛固酮症學會修訂指引的文章也開始進行投稿作業，多項研究工作同時進行的情況之下，這實為一個極其充實的月份。職於教授的鼓勵下，也開始幫忙處理 mice toe cutting for PCR genotype selection，在教授帶領下前往動物房，發現高雄榮總進入動物房真的是最高規格處理，包括進去前就得全套防護衣穿好，要過無菌消毒區才能進入，這裡是準備進入自己的動物區時才需要穿著，而且目前的規定是只要穿防護衣跟手套即可，動物房的專員平日會幫忙照顧動物，如果發現有何問題會馬上聯絡計畫主持人，教授說過往自己學習的時候每天都會來看，尤其是做了實驗的老鼠，這樣才會知道每天的變化，mice toe cutting 主要是要確認新生小鼠的 genotype，在什麼時間點進行 toe cutting 也是需要學習的，太小不好剪，太大一來開始會咬人，二來太大處理會流血，會有動物倫理問題，做完 PCR genotype 後如何分籠，也與教授學習討論。

## 2023 年 4 月

進行 podocyte 相關的基礎實驗的結果陸續出來，有些結果符合教授的想法，然而在如何讓自己的實驗結果一致，以及 western blot 的呈現如何客觀，始終是很難處理的一部分。focal adhesion 的 cell function 實驗則是很難短時間一直做，podocyte 必須到 39 度 C incubator 14 天才認定 differentiation 完成才能接續做，教授此時也是勉勵我基礎實驗本就如此，常常做了好久才有一點點進度，同一時間也開始與我討論有關於臨床腎臟疾病目前的情況，治療方式，以及我們身為臨床科醫師在處理腎臟疾病比較棘手的問題是什麼。教授覺得跟臨床醫師討論的好處是在於發想新的研究議題時可以與臨床醫學結合，不至於太專研於基礎反而與臨床脫鉤，這時候的我在實驗室的操作已經比較熟悉了，於是乎趁空擋投稿一

些先前積在電腦內的有趣的影像，很幸運地有投稿成功一篇 uremic frost，同一時間與 PGY 鄭醫師撰寫的文章在歷經數次投稿後，獲得 revision 的機會，與鄭醫師討論並請她進行修正和回覆後再次投稿出去。

## 2023 年 5 月

過去一段時間的努力陸續在這個月開花結果。我們第二次投稿的 tensins and kidney disease review article 獲得 revision 的機會，而且 reviewer 的意見給的很不錯，職與教授討論後很快地進行回覆，經歷了兩次 revision 後，月底收到被 accepted 的信件。此時剛好與教授討論起 MDPI 系列期刊，教授表示台灣有不少機構很在意 MDPI 期刊的公正性，甚至有些學校不接受 MDPI 系列期刊，教授表示他的經驗告訴他這類型的期刊依舊是有好的 reviewer 在進行 review，很難一竿子就打翻這類型期刊刊登的論文，認定一定是不好的文章，不過這也不代表台灣反對這類型期刊沒道理，符合各地的要求也是研究工作必須因應的現況；除此之外，個案報告以及原發性醛固酮回顧文章也都在這時候被接受，除了腎臟疾病的基礎實驗卡關，其他的努力似乎都有些許的收穫。這個月份剛好實驗室進行稽核，教授試著讓職第一線面對委員的查核跟詢問，過程收穫不少，包括事前準備了解實驗室每個地方需要的告示跟要求，緊急處置相關的位置和如何處置，教育訓練是否完整已經相關規定為何，委員稽核時得知職為進修人員後亦相當熱心，有些不熟悉職無法回應的問題，他們也是以教導的態度而非指責，我們實驗室需要加強的地方也是提醒我們事後補件完成要求即可。整個稽核的過程，不像是來抓出實驗室不對的地方，整個過程很順利也學習到很多。

## 2023 年 6 月-7 月

進修也來到了尾聲，最後一段時間我進行了 In Vitro DNA transfection 實驗，將教授修飾過的 tensins-1 transfection 進入 multicystic dysplastic kidney (MCDK) tensin-1 KO cell，當中的計算包括 transfect 多少濃度的 plasmid DNA，實驗後的 G418 使用濃度，利用螢光顯微鏡偵測出 transfect 成功的細胞後必須成功將之 lysis 下來種到新的培養盤，當從一個發光的細胞發展成一個 clone 然後長滿盤才算百分之百成功，覺得人工這樣做去篩選蠻累也有點靠運氣的，後來教授也有在某個階段說其實可以利用流式細胞儀將有發光的先

sorting 出來，再進行純化會更簡單，不過還是要回歸本來進行這個實驗的目的，如果只是想要看被 transfect 的細胞是否同時啟動哪些 cell signaling，則使用 IF 看螢光顯微鏡就可以獲得訊息，不必要純化到百分之百。Review article 也進行最後的檢視修正並順利刊登後，教授期許職將 tensins and kidney disease 的內容牢記起來，回國後能延續在美國學習的經驗，將 tensins 應用在臨床。同時提到後續會有新的研究助理到來，希望職能把相關實驗檢體做好標定以順利交接，與此同時小孩也進入暑假階段，陪同小孩參與許多 summer camp，職於 Aug 5 2023 回到台灣，結束為期一年的美國進修。

### 三、心得及建議（包括改進作法）

職此次出國學習及目標在於精進本身基礎研究的能力，擴展本身研究能力，以及感受美國一流學術殿堂的風範，與此有幾項心得及建議如下

(一)基礎研究老師與對應科別的臨床醫師合作：來美國進修時發現，臨床醫師在基礎研究領域專研，可以有幾種做法，第一是將自己臨床上遇到的問題與基礎研究老師探討合作，這樣的情況之下，醫師能持續專研照顧臨床病人並收集樣本，基礎老師則是與醫師討論出合適的議題並且決定使用的實驗素材，好處是各自所在的領域都有專精，相互合作得到加乘的效果，所解決的問題也能貼近臨床議題，符合現在轉譯醫學的要旨，需要補強的可能是臨床醫師對基礎醫學的認識，以及基礎老師需要知道臨床醫師看待疾病和治療的角度；第二是臨床醫師若真的很醉心於基礎研究，則醫師可以選擇將工作重心轉往基礎研究方向，臨床工作可以降載，甚至直接轉職為基礎研究學者，在美國不論臨床服務，教學，和研究，都有相對應的薪資所得，比重調適得宜，專心做研究的醫師儘管臨床做的非常少，也可以得到合理的薪水所得（也有聽說現在越來越重視教學，可以臨床加上教學的工作，就獲取相當不錯的薪水所得與教職），不過這個在台灣比較是要求醫學中心服務，教學，和研究缺一不可，與美國不太一樣，高雄榮總在院長帶領下，積極從事教研部基礎研究與臨床醫師媒合合作，與職感受到的第一個做法比較接近。若還有什麼建議可以錦上添花的話，現況多是單一醫師跟單一老師合作，如果有專門對應科別的基礎老師去進行互動合作，可能會更好。比如說某個老師基礎研究領域偏向肺部跟腎

臟疾病，則該老師可以媒合跟胸腔內外科和腎臟泌尿科合作，好處是整個科參與基礎研究討論學習，可以帶動整個科的研究風氣。年輕主治醫師能藉由此機會豐富自己的學習，在資深主治醫師和老師的帶領下，更能發想適合研究的方向，如此一來，年輕主治醫師要參與研究比較不會那麼辛苦，也比較不會退縮，另外一方面基礎老師負責固定幾個科別，也可以深化基礎老師本身的研究，合作起來也比較可長可久。

(二)持續深化本身臨床專業度，以臨床導向進行轉譯醫學研究：來美國進修時教授相當強調做的研究要貼近自己本身在做的事情，並且持續專一地做，有些學者是許多領域都涉獵，但大多數這樣的學者無法專精下去，成就可能到一個階段就無法再進步，以醫師來說，最大的資產就是臨床病人，醫師第一線接觸臨床病人，可以快速地發現問題，像是目前治療下仍無法突破的疾病可能的原因，或者是特殊個案可能的原因，或者是新研發藥物使用在病人上得到意外的效果的可能原因，此外醫師可以獲得最珍貴的人體檢體樣本，在美國也有聽到一年跟 NIH 要好幾千萬美金研究經費的醫師，並沒有念 PhD，很醉心於研究臨床病人，然後與許多基礎老師合作，老師們願意跟他合作的主要原因也在於醫師本身非常專業，篩選出來的病人不太會有 Bias，而且與病人互動建立的非常良好，病人都非常願意進行研究合作，因此有個心得是持續專心臨床照顧好每個病人，培養深化自己醫療專業度，可能也是讓自己有機會進一步產出更棒更有影響力的文章的不二法則。

(三)協助鼓勵年輕主治醫師提早出國進修：職出國一年在美國頂尖學院進修，深刻感受到進修一年對於有志留在醫學中心進行服務教學和研究的主治醫師有很大的幫忙，尤其是視野的開闊，頂尖研究的學習，國外生活的成長，勇氣膽識的培養，都對往後醫學中心的磨練極有幫忙，同時年輕主治醫師尋找合適的出國進修地點如果有科內資深前輩一起幫忙，找出對科內醫院的長遠規劃有一大幫忙的地點進行進修，將會是一個對醫院對病人很有利的投資。

# 附錄



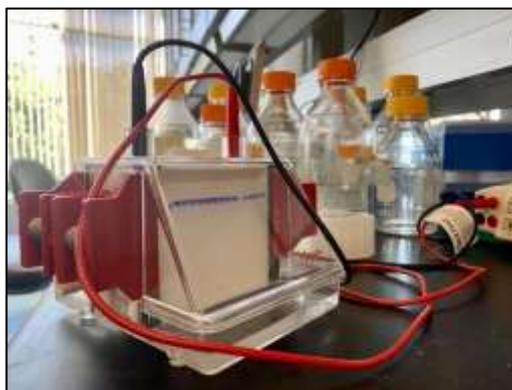
UC Davis 生化分子醫學系實驗室



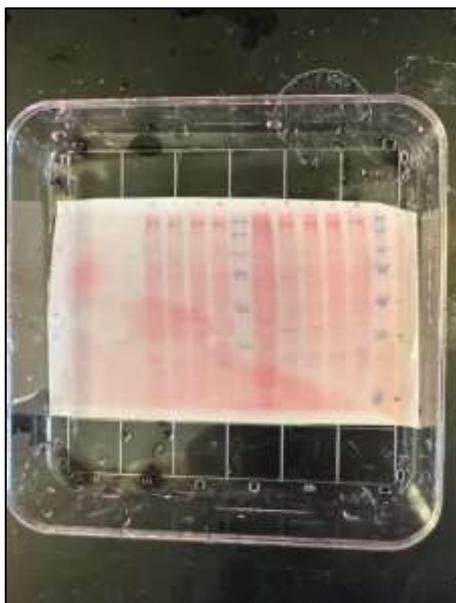
進修一年進行實驗的場所



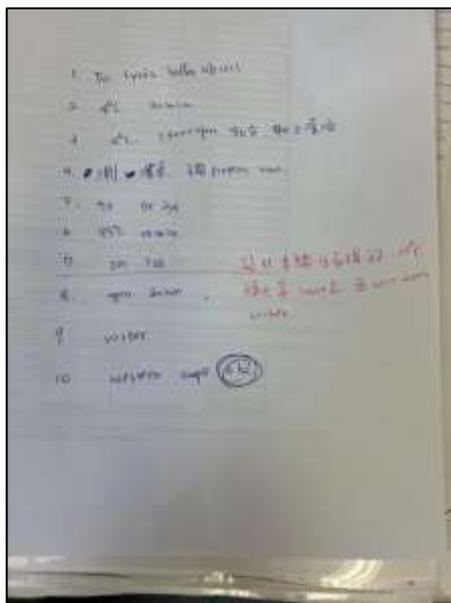
學習製作 WB 膠片



Western blot 實驗



利用 Ponsot 確定蛋白量



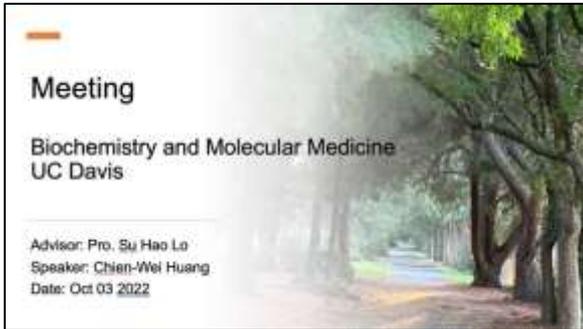
與助理討論 WB protocol



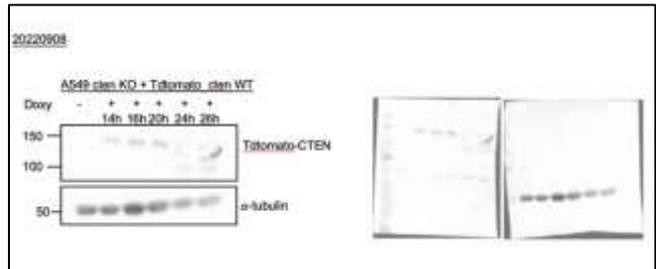
與教授討論研究



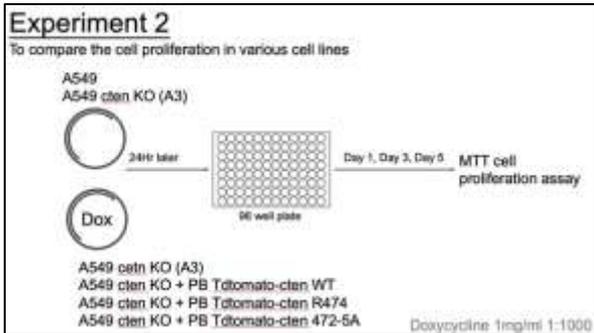
學習如何使用 confocal microscope



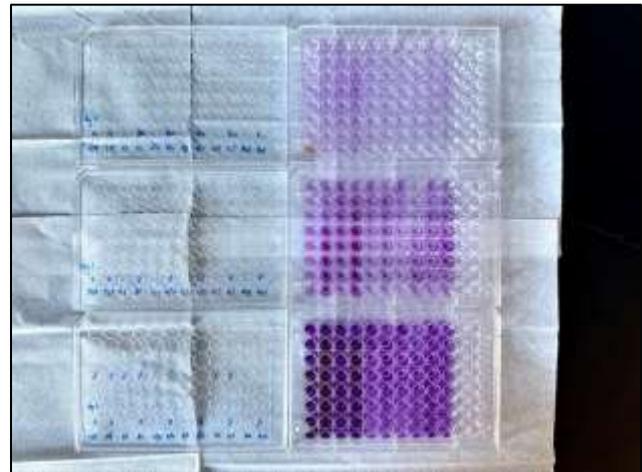
Lab Meeting 報告



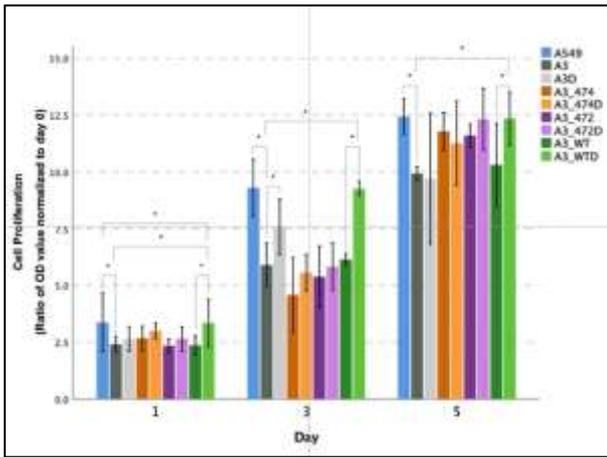
報告 WB 結果



報告實驗設計



進行 Cell proliferation 實驗



Cell proliferation 分析



使用無塵操作台進行實驗



學習實驗 IF 製作



參與系所研究生報告



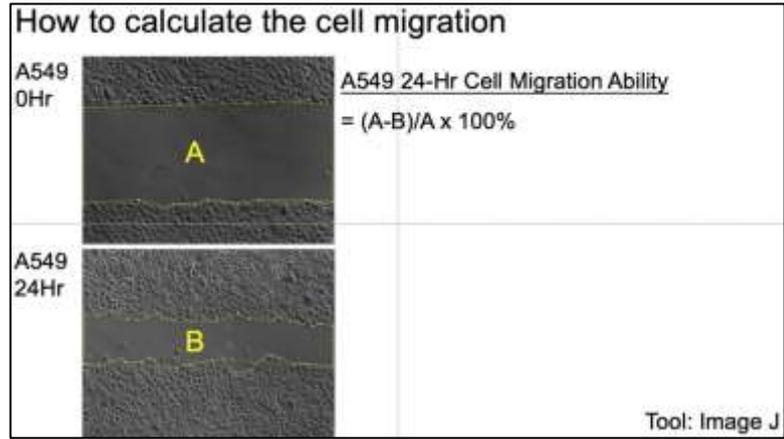
進行 cell migration 實驗



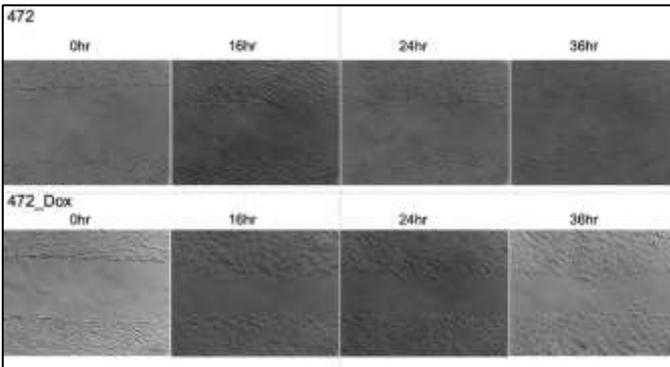
利用電腦計算 cell migration



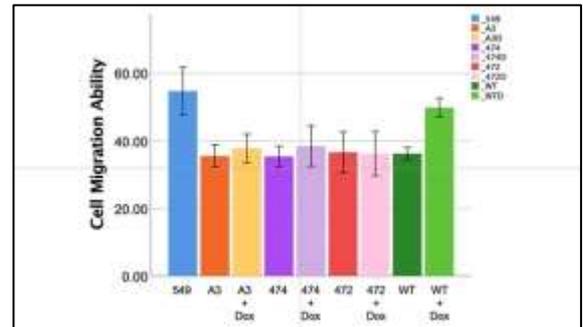
最後一班交通車



Cell migration 分析



不同時間的 cell migration 比較



Cell migration 結果判斷



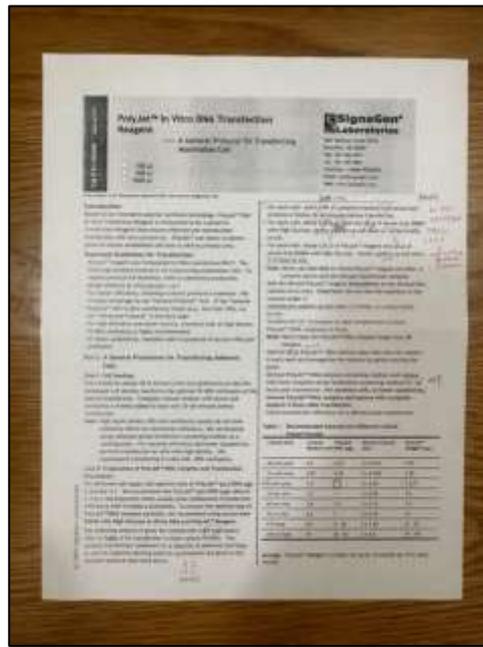
歲末聚餐



進動物房協助處理 mice



toe cutting 進行 genotype 分析



進行 DNA transfection 的 Protocol

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
WT	WT	WT	WT	AA	AA	AA	AA	AA	AA
WT_Can									
WT_Can									
WT	WT	WT	WT	AA	AA	AA	AA	AA	AA
WT_Can									
WT_Can									
WT	WT	WT	WT	AA	AA	AA	AA	AA	AA
WT_Can									
WT_Can									
WT	WT	WT	WT	AA	AA	AA	AA	AA	AA
WT_Can									
WT_Can									
WT	WT	WT	WT	AA	AA	AA	AA	AA	AA
WT_Can									
WT_Can									
WT	WT	WT	WT	AA	AA	AA	AA	AA	AA
WT_Can									
WT_Can									
WT	WT	WT	WT	AA	AA	AA	AA	AA	AA
WT_Can									
WT_Can									

交班給新任助理凍細胞整理明細



發表的 Review article 期刊